



Validation de la méthode
RAPID'*L.Mono* pour le dénombrement
de *Listeria monocytogenes*
(n°BRD 07/05-09/01)

Rapport de synthèse

Etude réalisée par :

L'INSTITUT PASTEUR DE LILLE
S.E.R.M.H.A.
Domaine du CERTIA - BP 20039
369, Rue Jules Guesde
59651 VILLENEUVE D'ASCQ CEDEX

pour :

BIO-RAD
3, Bd Raymond Poincaré
92 430 MARNES-LA-COQUETTE

1 Introduction

1.1 Référentiel de validation

L'étude de validation de la méthode RAPID'*L.Mono* pour le dénombrement de *Listeria monocytogenes* a été réalisée selon le référentiel EN ISO 16140 :2003.

1.2 Protocole et principe de la méthode alternative

1.2.1 - Présentation de la méthode

La méthode RAPID'*L.Mono* pour le dénombrement consiste à remplacer, dans la norme de référence ISO 11290-2, le milieu sélectif 'Agar *Listeria* selon Ottaviani and Agosti', par le milieu méthode RAPID'*L.Mono*.

A partir d'une suspension-mère en eau peptonée tamponnée diluée au dixième ou directement à partir de l'échantillon s'il est liquide, des volumes de 0,1 ml sont étalés sur des géloses de RAPID'*L.Mono*, avec une boîte par dilution (assimilable à une méthode de routine) en étalant, pour l'estimation des petits nombres, 1ml sur 3 boîtes.

Les boîtesensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 heures et jusqu'à 48 heures (+/- 3h).

Les colonies bleues obtenues sont confirmées, à raison d'une colonie par boîte (sous réserve que la présence de *Listeria monocytogenes* n'ait pas déjà été confirmée lors de la recherche de *Listeria monocytogenes* dans le même échantillon) :

- par les tests décrits dans les méthodes normalisées
- ou
- par piqûre sur gélose 'Agar *Listeria* selon Ottaviani et Agosti'.

Le schéma analytique est présenté en annexe A.

1.2.2 – Principe du milieu

Le milieu RAPID'*L.Mono* est un milieu de culture gélosé chromogénique, sélectif des *Listeria*, permettant une identification spécifique de *Listeria monocytogenes*.

Cette identification est basée sur la détection spécifique de l'activité PIPLC (Phosphatidyl Inositol Phospholipase C) chez *L.monocytogenes* et *L.ivanovii* (*L.monocytogenes* et *L.ivanovii* forment des colonies bleues et les autres espèces de *Listeria*, des colonies blanches).

La fermentation du xylose permet de différencier *L.ivanovii* (xylose + : auréole jaune autour de la colonie) de *L.monocytogenes* (xylose - : pas d'auréole autour de la colonie).

1.3 Domaine d'application demandé

- Tous produits d'alimentation humaine et prélèvements d'environnement

1.4 Méthode de référence

La méthode ISO 11290-2, utilisant la gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti, ensemencée en surface et incubée à 37°C, est la méthode de référence utilisée dans le cadre de cette validation. Ce milieu est incubé pendant 24 heures +/- 3 heures et 24 heures +/- 3 heures supplémentaires dans le cas de croissance faible ou si aucune colonie n'est observée.

Le schéma analytique de la méthode de référence est présenté en annexe A.

1.5 Historique de la validation

- date de première validation AFNOR : septembre 2001

- méthode de référence à laquelle la méthode a été comparée : EN ISO 11290-2 :1996 et EN ISO 11290-2/A1 :2004

- bilan des modifications intervenues dans la méthode alternative, ayant donné lieu ou non à une extension de validation :

Le principe et le protocole de la méthode alternative n'ont pas été modifiés depuis la validation initiale et aucune extension de validation n'a été demandée.

- principaux résultats obtenus lors de l'étude de validation initiale :

- *Spécificité* :

La spécificité avait été vérifiée :

- sur 208 souches de *L.monocytogenes*

- sur 57 souches de *Listeria* autres que *monocytogenes*

- sur 47 souches d'autres genres

Toutes les souches de *Listeria* avaient cultivé en 48 heures et montré les caractéristiques attendues (bleues sans auréole pour *Listeria monocytogenes*, bleues avec auréole jaune pour *Listeria ivanovii*, blanches pour les autres *Listeria*), sauf une souche de *Listeria monocytogenes* 3a qui n'avait pas exprimé l'activité PIPLC.

Aucune réaction typique de *Listeria monocytogenes* n'avait été observée pour les souches d'autres genres, même avec des souches ayant été répertoriées dans la bibliographie comme ayant une activité PIPLC : *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* et *Staphylococcus aureus*.

Ces résultats ont été repris dans l'étude de reconduction de validation.

- *Linéarité et sensibilité* :

3 matrices alimentaires (lait cru, rillettes artisanales et saumon fumé) avaient été étudiées en parallèle avec la méthode de référence et la méthode RAPID'*L.Mono* avec 4 souches de sérotypes différents (1/2a, 1/2b, 1/2c et 4b) à 5 niveaux de contamination répartis entre 10/g et 10⁵/g.

Les paramètres des droites de régression étaient obtenus conformément à la norme NF V03-110. Les droites de régression permettaient de vérifier que les points étaient regroupés le long de la droite ($y = x$).

Les tests statistiques permettaient de conclure que la méthode RAPID'*L.Mono* était linéaire, quelle que soit la matrice.

Le référentiel de validation ayant changé, ces résultats n'ont pas été repris dans l'étude de reconduction de validation.

- *Justesse* :

Cette étude a été réalisée sur des produits alimentaires contaminés et non contaminés en *Listeria monocytogenes*, issus des trois catégories alimentaires faisant l'objet du domaine d'application de la validation (produits carnés, produits laitiers, produits de la pêche), analysés en double par la méthode de référence EN ISO 11 290-2 :1996 et par la méthode RAPID'*L.Mono*.

Au total, 165 produits avaient été analysés en double, de manière à obtenir des résultats exploitables pour 93 échantillons.

La comparaison de la méthode RAPID'*L.Mono* à la méthode de référence EN ISO 11290-2 :1996, selon la norme NF V03-110, avait permis de conclure que la méthode alternative donnait des résultats justes par rapport à la méthode de référence.

Le référentiel de validation ayant changé, ainsi que la méthode de référence, ces résultats n'ont pas été repris dans l'étude de reconduction de validation.

- *Fidélité :*

Les valeurs de répétabilité et de reproductibilité obtenues lors d'un essai interlaboratoire étaient les suivantes :

0.25 à 0.49 log UFC/ml pour la répétabilité

0.27 à 0.49 log UFC/ml pour la reproductibilité

Le référentiel de validation ayant changé, une nouvelle étude interlaboratoire a été organisée dans l'étude de reconduction.

1.6 Etude bibliographique

- Aucune autre validation externe n'a été réalisée.
- La recherche bibliographique n'a pas permis d'identifier de publications concernant l'utilisation de la méthode RAPID'*L.Mono* en dénombrement de *Listeria monocytogenes*.

1.7 État des modifications de référentiels intervenues depuis la précédente validation

Le référentiel technique de la validation a évolué et s'appuie sur le référentiel EN ISO 16140 :2003.

La méthode de référence à laquelle a été comparée la méthode alternative (EN ISO 11290-2 :1996) a également évolué en 2004, avec des modifications majeures concernant le milieu de dénombrement : remplacement du milieu PALCAM par le milieu 'Agar *Listeria* selon Ottaviani et Agosti'.

2 Etude comparative des méthodes

2.1 Exactitude relative

L'exactitude relative définie dans la norme EN ISO 16140 :2003 est l'écart de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée.

Aucun résultat de l'étude de validation initiale n'a été repris.

2.1.1 Nature des essais

Cinq catégories alimentaires ont été étudiées en parallèle avec la méthode de référence EN ISO 11290-2 :2004 et la méthode alternative RAPID'*L.Mono*. Dans chaque catégorie, au moins 10 résultats exploitables ont été obtenus, de manière à couvrir la gamme de contaminations habituellement rencontrées.

Au total, 96 produits ont été analysés, de manière à obtenir au moins 50 résultats exploitables.

Catégories	Types	Echantillons analysés	Echantillons exploités
Produits carnés	viandes et abats	7	3
	charcuteries	7	3
	produits assaisonnés	10	4
	TOTAL	24	10
Produits laitiers	lait cru	3	2
	glaces et pâtisseries	4	4
	fromages au lait cru	10	5
	TOTAL	17	11
Produits végétaux	crus	5	4
	surgelés	11	5
	cuits	4	1
	jus de fruits	2	2
	TOTAL	22	12
Produits de la pêche	poissons crus et crustacés	8	4
	poissons fumés	4	2
	produits préparés	7	5
	TOTAL	19	11
Environnement	eaux	5	2
	surface	5	5
	résidus	4	3
	TOTAL	14	10
TOTAL	96	54	

Les 42 échantillons pour lesquels les résultats n'étaient pas interprétables présentaient :

- des dénombrements inférieurs à 10 UFC/g par les deux méthodes pour 34 d'entre-eux,
- des dénombrements inférieurs à 10 UFC/g par l'une des deux méthodes pour un d'entre-eux,
- des dénombrements inférieurs à 1000 UFC/g (ou plus) ou supérieurs à 150000 UFC/g (ou plus) par les deux méthodes pour 5 d'entre-eux,
- des dénombrements inférieurs à 1000 UFC/g par l'une des deux méthodes pour 2 d'entre-eux.

2.1.2 Contaminations artificielles

Des contaminations artificielles ont été réalisées, en utilisant des suspensions contaminantes stressées dont le traitement et l'efficacité du stress ont été déterminés. 24 résultats ont été exploités suite à des contaminations artificielles.

Le pourcentage de contaminations artificielles est de 44% pour l'ensemble des échantillons dont les résultats étaient interprétables.

2.1.3 Résultats bruts

Chaque échantillon a été analysé en double par la méthode alternative et par la méthode de référence. Les résultats bruts figurent en annexe B.

Selon la norme EN ISO 16140, un graphique bidimensionnel avec les valeurs de chaque échantillon a été tracé. L'axe vertical (y) est utilisé pour la méthode alternative et l'axe horizontal (x) est utilisé pour la méthode de référence.

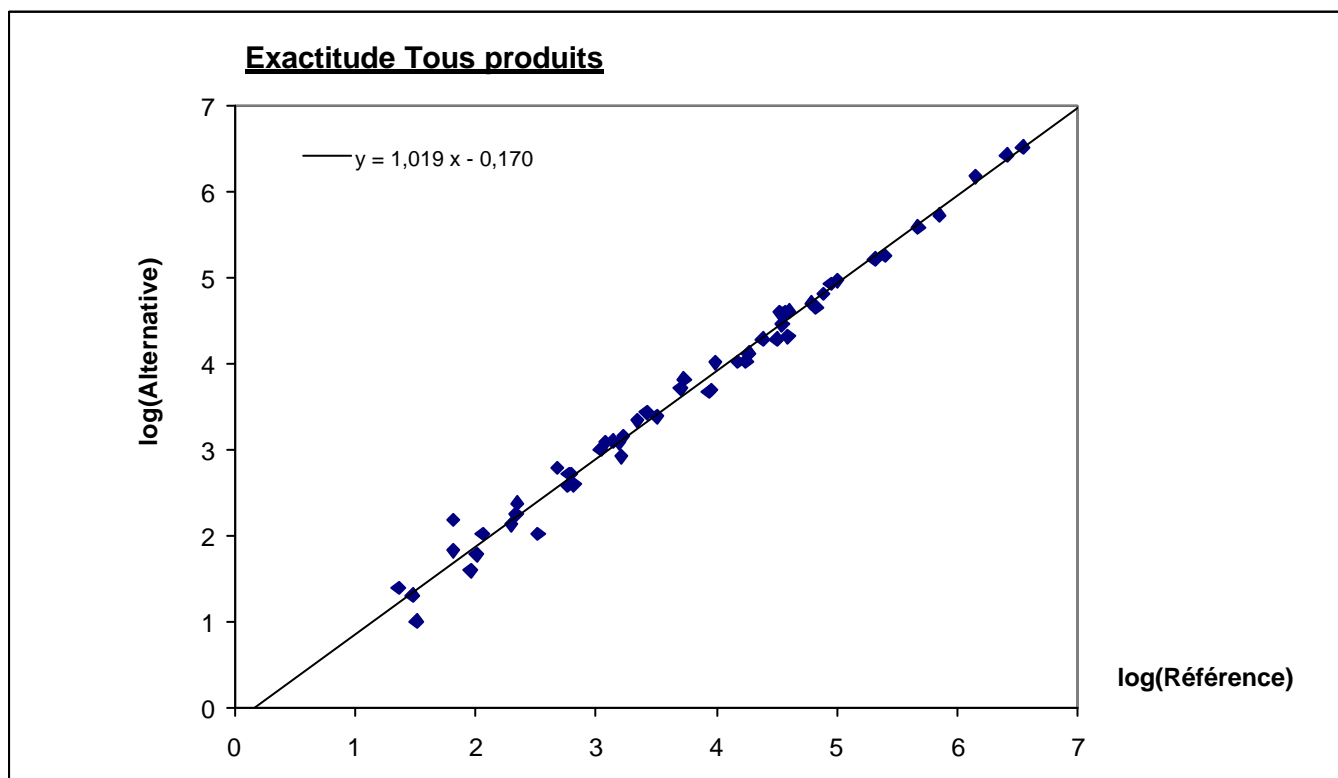
Les données ont ensuite été testées par un programme de régression linéaire, afin de déterminer la valeur de l'intercept (a) et la valeur de la pente (b).

La relation d'exactitude relative est évaluée avec le modèle : $y = bx + a$.

Pour chacune des méthodes, les écarts-types robustes de répétabilité ont été calculés (Rob.sr(x) & Rob.sr(y)).

En fonction du rapport de ces écarts-types $Rob.R = Rob.sr(y)/Rob.sr(x)$, la régression linéaire à utiliser pour l'interprétation est définie dans la norme EN ISO 16140.

Les graphiques suivants représentent les valeurs brutes obtenues pour les échantillons analysés, ainsi que la droite de régression obtenue.

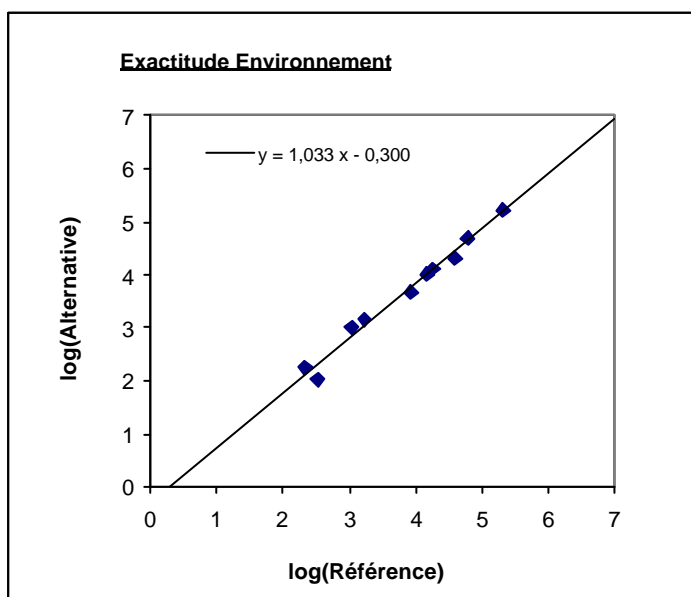
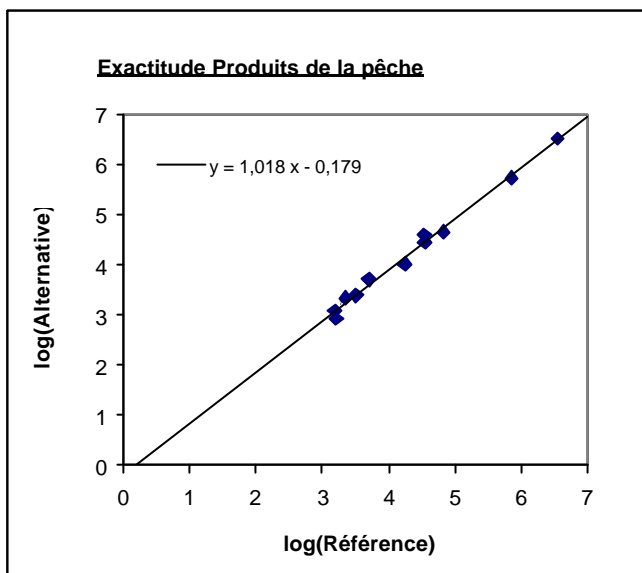
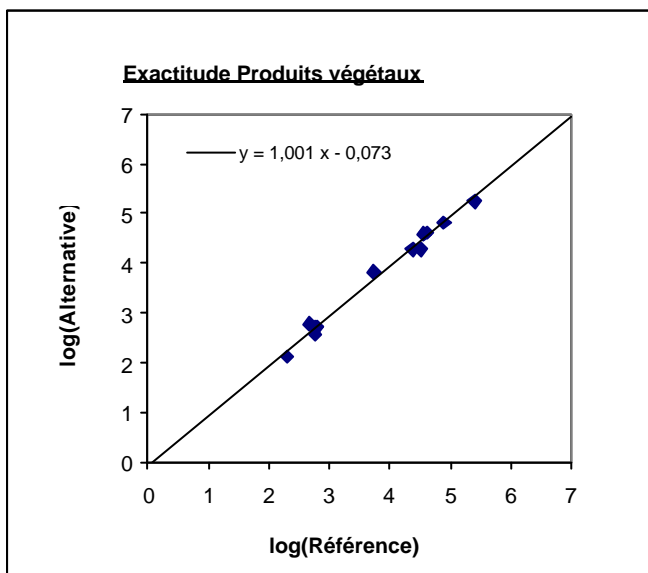
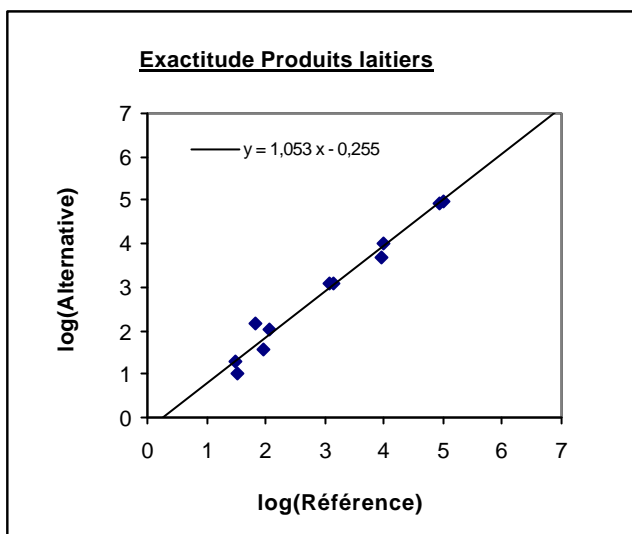
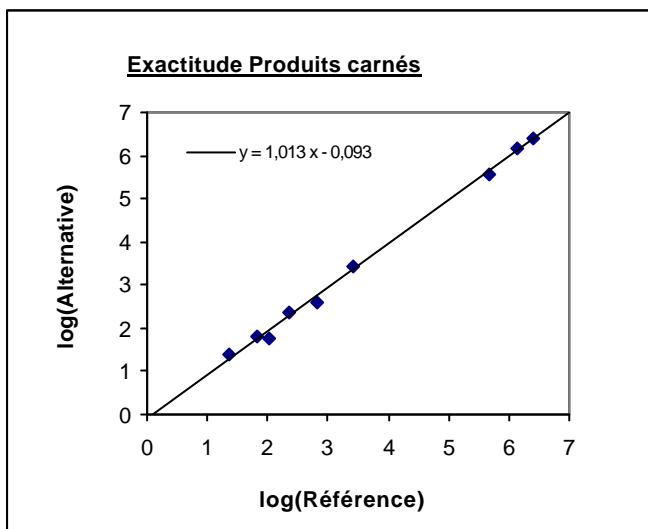


Des graphiques par catégorie de produits sont également représentés ci-dessous :

avec :

$y = \log(N \text{ méthode alternative})$

$x = \log(N \text{ méthode de référence})$



2.1.3 Interprétation statistique

Afin de vérifier si l'exactitude relative est satisfaisante, les deux hypothèses suivantes doivent être vérifiées au risque $\alpha = 5\%$:

- Ordonnée à l'origine (ou intercept) {a = 0}
- Pente {b = 1}

Synthèse des résultats

Les régressions utilisées, ainsi que les valeurs de a et b obtenues et les conclusions associées sont reprises dans le tableau suivant :

Matrice	Rob.R	Régression utilisée	Tcritique	a	t(a)	p(t ;a=0)	b	t(b)	p(t ;b=1)	Conclusion
Produits carnés	1,84	GMFR	2,365	-0,093	1,118	0,300	1,013	0,612	0,560	{a=0} acceptée {b=1} acceptée
Produits laitiers	1,24	GMFR	2,262	-0,255	1,358	0,208	1,053	0,915	0,384	{a=0} acceptée {b=1} acceptée
Produits végétaux	1,65	GMFR	2,226	-0,073	0,579	0,575	0,995	0,040	0,969	{a=0} acceptée {b=1} acceptée
Produits de la pêche	1,50	GMFR	2,262	-0,017	1,450	0,181	1,018	0,639	0,539	{a=0} acceptée {b=1} acceptée
Environnement	0,94	GMFR	2,306	-0,300	1,541	0,162	1,033	0,668	0,523	{a=0} acceptée {b=1} acceptée
Toutes matrices	1,30	GMFR	2,009	-0,170	2,808	0,007	1,019	1,266	0,211	{a=0} non acceptée {b=1} acceptée

L'équation de la droite de régression entre la méthode alternative et la méthode de référence, toutes catégories confondues, est la suivante :

$y = -0,170 + 1,019 x \quad (r^2 = 0,989)$ <p>avec :</p> <p>y = log(N méthode alternative)</p> <p>x = log(N méthode de référence)</p>

Les limites de répétabilité (en log) obtenues pour la méthode alternative et la méthode de référence sont les suivantes :

Méthode alternative	Méthode de référence
$r = 0,21$	$r = 0,16$

Le biais entre les deux méthodes (méthode alternative – méthode de référence) est $D = -0,09$ log.

2.1.3 Conclusion

Pour toutes les catégories de produits, les deux hypothèses {a=0} et {b=1} sont acceptées. Il n'y a pas de biais systématique entre les méthodes.

Cependant, si l'on regroupe l'ensemble des matrices, l'hypothèse {a=0} est rejetée, alors que l'hypothèse {b=1} est acceptée.

Le biais calculé entre la méthode alternative et la méthode de référence est inférieur à $-0,1$ log.

Au vu de la représentation graphique log(Alternative) en fonction de log(Référence) (cf. § 2.1.2), nous pouvons néanmoins distinguer deux groupes de points :

- un premier pour les valeurs comprises environ entre 1 log et 3 log, pour lesquelles les dénombrements sont obtenus en considérant dans les calculs les trois boîtes ensemencées à la première dilution avec 1 ml de la suspension mère
- un second pour les valeurs au dessus de 3 log pour lesquelles les dénombrements sont obtenus à partir de géloses ensemencées avec 0,1 ml

Ces deux groupes de valeurs ont donc été testés séparément par le programme de régression linéaire (cf. annexe C).

Il apparaît que pour chacun des groupes de données, les deux hypothèses {a=0} et {b=1} sont acceptées.

La dispersion et le biais pour les valeurs obtenues entre les log 1 et 3 sont plus élevées que pour les valeurs obtenues entre les log supérieurs à 3, mais les écarts sont tout à fait acceptables (en moyenne, 0,1 log d'écart entre deux résultats).

2.2 Linéarité

La linéarité définie dans la norme EN ISO 16140 est l'aptitude de la méthode à fournir des résultats proportionnels à la quantité de microorganismes présents dans l'échantillon, c'est-à-dire qu'à une augmentation de l'analyte correspond une augmentation linéaire ou proportionnelle des résultats.

Aucun résultat de l'étude de validation initiale n'a été repris.

2.2.1 Matrices utilisées

Cinq types d'aliments ont été choisis dans cinq catégories alimentaires, de manière à déterminer cinq niveaux de contamination par catégorie, répartis de manière homogène dans toute la gamme de contaminations rencontrées usuellement dans les produits alimentaires.

Les produits ont été contaminés, à chacun de ces niveaux, par *Listeria monocytogenes*.

Cinq souches d'origines différentes ont été utilisées, en fonction du produit contaminé.

<u>Produit</u>	<u>Souche</u>	<u>Origine</u>
rillettes	<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2b	Crème de foies de volaille
lait cru	<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2b	Maroilles au lait cru
chou	<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	Salade
saumon fumé	<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a	Saumon fumé
eau de process	<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2c	Environnement

Les niveaux de contamination ont été répartis entre 10/g et 10 000/g :

- niveau minimal :	10 à 50	UFC/g
- niveau intermédiaire 1 :	50 à 100	UFC/g
- niveau moyen :	100 à 500	UFC/g
- niveau intermédiaire 2 :	500 à 1 000	UFC/g
- niveau maximal :	1 000 à 10 000	UFC /g

Chaque échantillon par niveau a été dupliqué, en réalisant deux séries de dilutions, et analysé par la méthode alternative et par la méthode de référence.

Au total, 10 analyses par produits, soit 50 analyses au total, ont été réalisées.

2.2.2 Résultats bruts

Les échantillons ont été testés en deux réplicats par chacune des méthodes

Les résultats bruts figurent en annexe D.

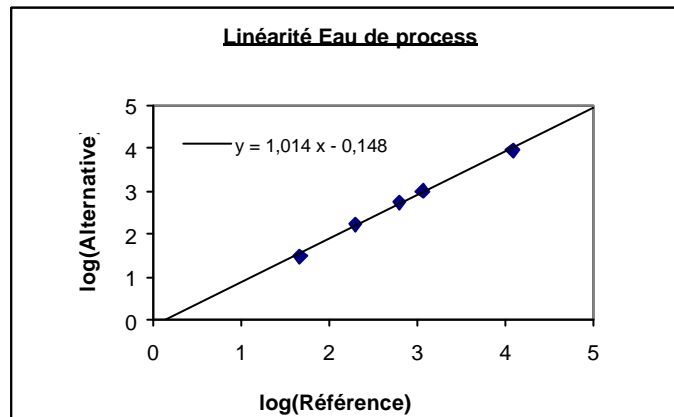
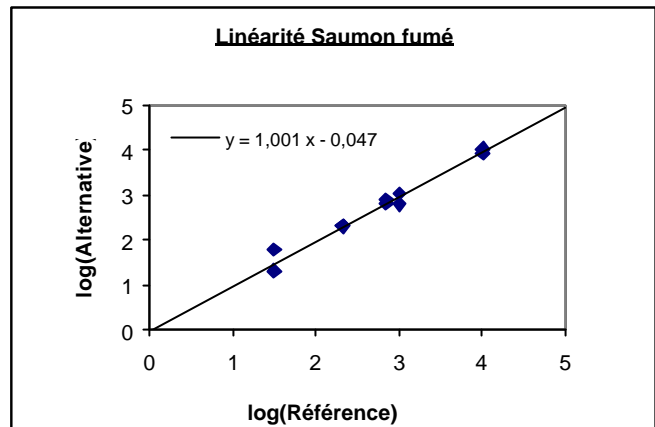
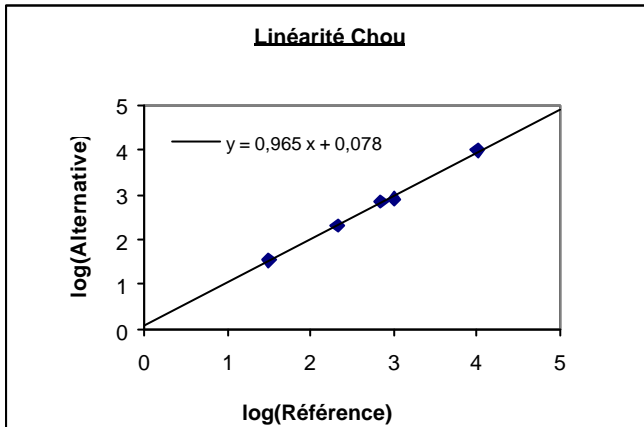
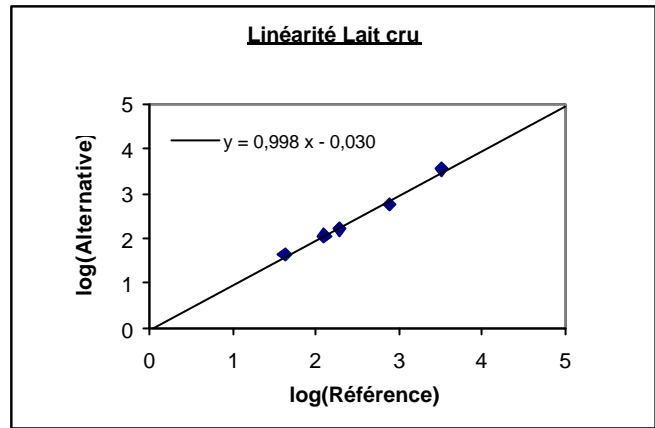
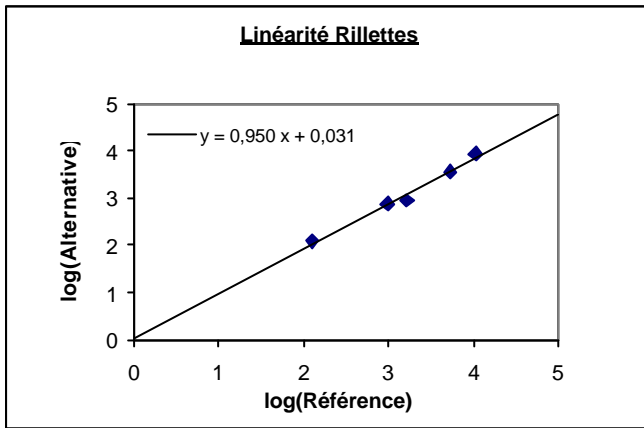
Comme pour l'exactitude relative, selon la norme EN ISO 16140, un graphique bidimensionnel avec les valeurs de chaque échantillon a été tracé pour chaque produit contaminé.

Les données ont ensuite été testées par un programme de régression linéaire.

La non linéarité est déterminée par l'évaluation du défaut d'ajustement (lack of fit).

Pour chacune des méthodes, les écarts-types robustes de répétabilité ont été calculés (Rob.sr(x) & Rob.sr(y)).

En fonction du rapport de ces écarts-types $Rob.R = Rob.sr(y)/Rob.sr(x)$, la régression linéaire à utiliser pour l'interprétation est définie dans la norme EN ISO 16140.



avec :

$y = \log(N \text{ méthode alternative})$

$x = \log(N \text{ méthode de référence})$

2.2.3 Interprétation statistique

Les droites des régressions obtenues, ainsi que les valeurs de Rob.F et les conclusions associées sont reprises dans le tableau suivant :

Matrice	Rob.F	Fcritique	Conclusion	Droite de régression
rillettes	1,01	5,41	linéaire	$y = -0,031 + 0,950x$
lait cru	1,45		linéaire	$y = 0,030 + 0,998x$
chou	1,26		linéaire	$y = 0,078 + 0,965x$
saumon fumé	2,65		linéaire	$y = -0,047 + 1,001x$
eau de process	0,66		non linéaire	$y = -0,148 + 1,014x$

$y = \log(N \text{ méthode alternative})$

$x = \log(N \text{ méthode de référence})$

2.2.4 Conclusion

Pour les rillettes, le lait cru, le chou et le saumon fumé, la relation entre la méthode de référence et la méthode alternative est linéaire au risque $\alpha = 5\%$.

Pour l'eau de process, la relation entre la méthode de référence et la méthode alternative est linéaire au risque $\alpha = 3\%$. Le coefficient de corrélation est particulièrement élevé pour cette matrice, ce qui rend le test statistique peu robuste. Les résultats obtenus, ainsi que la droite de corrélation (coefficient de la pente = 1 et ordonnée à l'origine proche de 0) sont tout à fait satisfaisants.

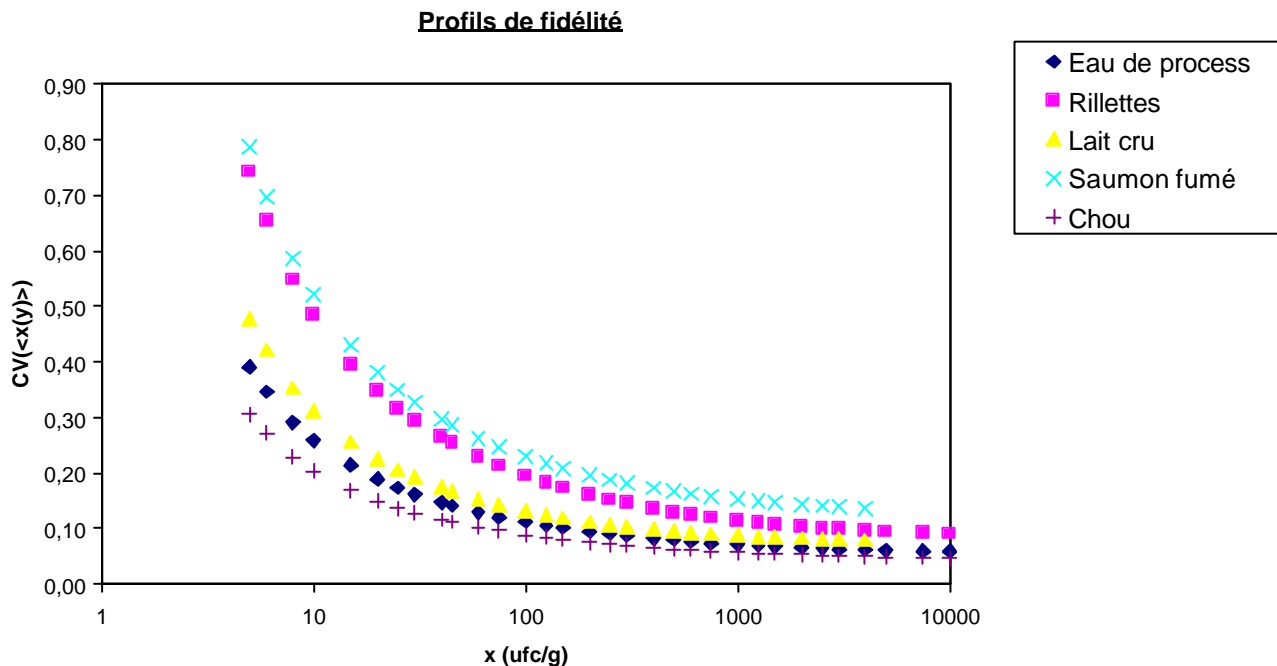
2.3 Sensibilité relative et détermination d'échantillons inconnus

La sensibilité est calculée pour chaque valeur du domaine de mesure. Elle est déterminée par les valeurs prédites de x.

Pour chacune des matrices étudiées précédemment, les valeurs de l'écart-type résiduel, ainsi que les valeurs de a et b ont été déterminées suite à la régression utilisée, ce qui permet de déterminer :

- $s(<x(y)>)$
- et
- $<x(y)>$, valeur prédite de x, avec son intervalle de confiance

La relation entre ces deux déterminations permet de tracer le profil de fidélité pour chacune des matrices sur l'étendue du domaine de mesure.



La précision sur un résultat est meilleure lorsque les valeurs de dénombrement augmentent. Pour les faibles nombres, elle varie, pour ces essais, de 30 à 80 %.

2.4 Limites de détection et de quantification

Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) ont été déterminées par l'analyse de cultures pures de *Listeria monocytogenes*, avec la méthode alternative.

Trois niveaux d'inoculation ont été testés, avec six réplicats par niveau.

Deux types d'ensemencement ont été testés : 1 ml inoculé sur 3 boîtes et 0,1 ml inoculé sur une boîte.

Ensemencement de 1 ml sur 3 boîtes

Niveau	Nombre d'échantillons « positifs »	Ecart-type s_0	Biais x_0 (médiane des x_{0i})
0 UFC/ml	0/6		
0,2 UFC/ml [0 – 2]	3/6	1,1926	0,5
0,7 UFC/ml [0 – 4]	3/6	1,1926	0,5
3 UFC/ml [0 – 9]	6/6	2,3852	2,0

A partir des valeurs s_0 et x_0 obtenues pour le premier niveau, la limite critique (LC), la limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ) ont été déterminées :

	Formule	Valeur obtenue
LC	$1,65 s_0 + x_0$	2,47
LOD	$3,3 s_0 + x_0$	4,43
LOQ	$10 s_0 + x_0$	12,43

Ensemencement de 0.1 ml sur 1 boîte

Niveau	Nombre d'échantillons « positifs »	Ecart-type s_0	Biais x_0 (médiane des x_{0i})
0 UFC/ml	0/6		
4,5 UFC/ml [1 – 11]	1/6	0	0
8,5 UFC/ml [3 – 16]	3/6	11,926	5
25,4 UFC/ml [16 – 37]	6/6	29,815	25

A partir des valeurs s_0 et x_0 obtenues pour le premier niveau, la limite critique (LC), la limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ) ont été déterminées :

	Formule	Valeur obtenue
LC	$1,65 s_0 + x_0$	24,7
LOD	$3,3 s_0 + x_0$	44,3
LOQ	$10 s_0 + x_0$	124,3

2.5 Spécificité

L'objectif de cette étude est de s'assurer que toutes les *Listeria monocytogenes* sont détectées, qu'il n'existe pas de réactions croisées avec d'autres espèces que *Listeria monocytogenes* ou d'autres genres.

Compte-tenu des validations antérieures, de nombreux résultats existent (cf.annexe E) et permettent de satisfaire ce critère.

La spécificité avait été vérifiée lors des études de validation et d'extension précédentes :

- sur 184 souches de *L.monocytogenes*
- sur 51 souches de *Listeria* autres que *monocytogenes*
- sur 43 souches d'autres genres

Toutes les souches de *Listeria* avaient cultivé en 48 heures et montré les caractéristiques attendues (bleues sans auréole pour *Listeria monocytogenes*, bleues avec auréole jaune pour *Listeria ivanovii*, blanches pour les autres *Listeria*), sauf une souche de *Listeria monocytogenes* 3a qui n'avait pas exprimé l'activité PIPLC.

Aucune réaction typique de *Listeria monocytogenes* n'avait été observée pour les souches d'autres genres, même avec des souches ayant été répertoriées dans la bibliographie comme ayant une activité PIPLC : *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* et *Staphylococcus aureus*.

3 Etude interlaboratoire

L'étude collaborative a pour objectif de déterminer comparativement les caractéristiques de performance (exactitude et fidélité) de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence.

Selon les exigences du référentiel EN ISO 16140 : 2003, les laboratoires participants doivent réaliser l'analyse selon la méthode RAPID'L.Mono et selon la méthode de référence, EN ISO 11290-2/A1/2004.

3.1 Mise en œuvre

- Nombre de laboratoires participants

15 laboratoires étaient destinataires des échantillons.

- Matrice utilisée

La matrice « lait pasteurisé » a été utilisée pour la réalisation de l'étude interlaboratoire.

- Souche utilisée

La souche utilisée pour les contaminations est une souche de *Listeria monocytogenes*1/2b (L37), origine « produits laitiers ».

- Nombre d'échantillons par laboratoire

8 échantillons par laboratoire ont été préparés, répartis en 4 niveaux, avec 2 échantillons par niveau.

3.2 Contrôle des paramètres expérimentaux

3.2.1 Taux de contamination après contamination artificielle des échantillons

Les taux de contaminations obtenus dans la matrice figurent dans le tableau ci-dessous :

Niveau	Echantillons	Taux théorique ciblé (b/ml)	taux réel (b/ml d'échantillon)
Niveau 0	2 et 6	0	0
Niveau bas	4 et 8	100	86
Niveau intermédiaire	1 et 5	1 000	780
Niveau haut	3 et 7	10 000	7900

3.2.2 Température relevée au cours du transport, température à réception et délais de réception

Les courbes de températures obtenues suite à l'exploitation des données des thermoboutons montrent que les températures sont stables au cours du transport.

Les températures relevées à réception des échantillons dans les laboratoires et les délais de réception sont reprises dans les tableaux ci-dessous :

Laboratoire	Températures à réception (°C)		Commentaires
	communiquée par le laboratoire	indiquée par le thermobouton	
A	6,4	7,2	/
B	5,5	6,7	/
C	4,7	4,3	/
D	0,2	2,2	/
E	12,0	7,7	/
F	6,0	3,7	/
G	7,0	6,2	/
H	9,2	14,6	Dépassement de 8°C pendant 5 heures
I	7,5	5,2	/
J	11,6	5,3	/
K	/	5,8	Echantillons reçus à J+2
L	non communiquée	12,8	Dépassement de 8°C pendant 4 heures
M	8,3	5,0	/
N	9,0	9,3	Dépassement de 8°C pendant moins de 30 minutes
O	2,0	3,7	/

3.2.3 Conclusion

Tous les laboratoires ont réalisé les analyses, sauf le laboratoire K (réception hors délais).

Les laboratoires H, L et N ont reçu des échantillons à une température supérieure à 8°C. Les résultats de ces laboratoires, bien que présentés en annexe, n'ont pas été exploités statistiquement.

Au total, les résultats de 11 laboratoires ont donc été traités statistiquement.

3.3 Résultats des analyses

3.3.1 Résultats obtenus par les laboratoires collaborateurs

Les résultats des 14 laboratoires ayant réalisé les analyses, figurent ci-dessous, présentés selon les exigences de la norme EN ISO 16140 : 2003.

Les résultats des laboratoires H, L et N sont donnés à titre indicatif.

Niveau 1 (résultats en UFC/ml)

Laboratoire	Méthode de référence		Méthode alternative	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
A	120	75	60	40
B	95	85	70	90
C	90	80	80	50
D	90	120	90	170
E	90	130	40	70
F	130	65	50	120
G	95	110	90	130
H	100	110	90	110
I	70	80	140	90
J	120	110	90	110
L	140	110	90	120
M	95	130	110	130
N	95	80	90	150
O	65	95	110	50

Niveau 2 (résultats en UFC/ml)

Laboratoire	Méthode de référence		Méthode alternative	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
A	1300	1200	810	520
B	1000	1100	940	950
C	1000	1000	1000	1100
D	1000	940	1000	900
E	930	1100	940	920
F	1000	1100	810	1000
G	910	900	910	1000
H	1100	1000	1200	1100
I	1000	1100	1100	980
J	950	1100	1200	1100
L	1000	1000	830	1300
M	1000	1200	1100	830
N	940	980	660	810
O	820	1200	640	940

Niveau 3 (résultats en UFC/ml)

Laboratoire	Méthode de référence		Méthode alternative	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
A	9700	9700	9300	9900
B	9400	9000	7800	9700
C	10000	12000	11000	11000
D	11000	11000	9500	10000
E	9600	10000	11000	9400
F	11000	10000	8900	9500
G	13000	12000	12000	13000
H	12000	9400	9400	9500
I	12000	12000	11000	12000
J	12000	9500	12000	11000
L	15000	35000	26000	40000
M	11000	11000	16000	10000
N	12000	13000	9500	10000
O	7600	8500	9000	9500

3.3.2 Conclusion

Les dénombrements obtenus par les laboratoires sont du même ordre que ceux du laboratoire expert, y compris pour les laboratoires dont les températures à réception étaient supérieures à 8°C.

3.4 Calculs

L'exploitation des résultats a été réalisée selon la norme EN ISO 16140 : 2003.

Les résultats ont préalablement été convertis en log, à partir des données brutes figurant en annexe F.

La norme EN ISO 16140:2003 recourt à des estimateurs robustes afin d'éviter d'exclure des laboratoires présentant des valeurs extrêmes.

Il s'agit d'estimer trois valeurs de consensus pour tous les laboratoires participants :

- l'estimation du centre global, pour les estimations du biais : la médiane **MED**
- l'estimation de la dispersion entre les moyennes des duplicats, qui inclut la reproductibilité : s_b basé sur la médiane récursive S_n
- l'estimation de la dispersion interne typique, l'écart-type de répétabilité s_r , dérivé de la médiane des écart-types des duplicats : $k_2 \text{ MED}\{s_r\}$

Les valeurs de ces différents estimateurs sont utilisées pour déterminer les valeurs de répétabilité, de reproductibilité et de dispersion inter-laboratoires.

3.4.1 Vérification de l'exactitude relative

Afin de vérifier si l'exactitude relative est satisfaisante, l'hypothèse **{D = 0}** (hypothèse selon laquelle le biais entre les deux méthodes est nul) est testée.

Les valeurs du biais (alternative – référence), de l'écart-type robuste des différences et de la statistique t(d) sont reprises dans les tableaux ci-dessous :

	Biais D (log)	$s\{d_i\}$	t(d)	Tcritique	Conclusion
Niveau 1	- 0,054	0,128	1,393	2,228	{D=0} acceptée
Niveau 2	- 0,030	0,068	1,475		{D=0} acceptée
Niveau 2 bis	- 0,059	0,212	0,922		{D=0} acceptée
Niveau 3	- 0,005	0,038	0,451		{D=0} acceptée

Conclusion

L'hypothèse selon laquelle le biais entre les deux méthodes est nul est statistiquement acceptée pour tous les niveaux. L'exactitude relative de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence est, de ce fait, satisfaisante.

3.4.2 Répétabilité

Selon la norme EN ISO 16140 : 2003 :

- la répétabilité est l'écart-type d'accord entre des résultats successifs et indépendants obtenus avec la même méthode, en utilisant un matériau d'essai identique, dans des conditions identiques,
- la limite de répétabilité (r) est la valeur inférieure ou égale à laquelle la différence absolue entre deux résultats d'essai obtenus dans des conditions de répétabilité est attendue avec une probabilité de 95%.

Pour chaque méthode et chaque niveau, les limites de répétabilité, en log(UFC/g) ont été calculées.

Ces valeurs sont indiquées dans les tableaux ci-dessous :

	r (méthode de référence)	r (méthode alternative)
Niveau 1	0,367	0,563
Niveau 2	0,140	0,146
Niveau 3	0,050	0,082

Conclusion

Les répétabilités obtenues pour la méthode de référence et la méthode alternative sont statistiquement comparables pour chacun des niveaux.

Les valeurs sont d'autant moins élevées que le niveau de contamination est fort.

3.4.3 Reproductibilité

Selon la norme EN ISO 16140 : 2003 :

- la reproductibilité est l'écart entre des résultats d'essais individuels effectués sur un matériau d'essai identique, en utilisant la même méthode et obtenus par des opérateurs de différents laboratoires utilisant un équipement différent,
- la limite de reproductibilité (R) est la valeur inférieure ou égale à laquelle la différence absolue entre deux résultats d'essai obtenus dans des conditions de reproductibilité est attendue avec une probabilité de 95%.

Pour chaque méthode et chaque niveau, les limites de reproductibilité, en log(UFC/g) ont été calculées. Ces valeurs sont indiquées dans les tableaux ci-dessous :

	R (méthode de référence)	R (méthode alternative)
Niveau 1	0,367	0,654
Niveau 2	0,140	0,162
Niveau 3	0,138	0,194

Conclusion

Pour le niveau 1, la reproductibilité de la méthode alternative est moins bonne que celle de la méthode de référence. Il s'agit de dénombrements sur des petits nombres, avec un nombre de boîtes doublé pour la méthode de référence, ce qui explique ce résultat.

Pour les niveaux 2 et 3, les deux méthodes sont comparables en terme de reproductibilité.

3.4.4. Dispersion entre les laboratoires

Il s'agit de vérifier que les différences entre les laboratoires sont inférieures à la dispersion interne typique de la détermination.

Le calcul d'une valeur notée F, pour chacun des niveaux et pour chaque méthode, permet de déterminer la probabilité d'avoir une dispersion homogène entre les laboratoires :

Ces valeurs de F indiquent l'importance de la variation entre laboratoires.

Les valeurs de F et de p(F) figurent dans le tableau ci-dessous :

	Méthode de référence		Méthode alternative	
	F	p(F)	F	p(F)
Niveau 1	0,611	0,777	1,694	0,200
Niveau 2	0,980	0,509	1,482	0,264
Niveau 3	14,151	0,000	10,119	0,000

Pour les niveaux 1 et 2, la dispersion entre les laboratoires est acceptable, quelle que soit la méthode.

Pour le niveau 3, la dispersion entre les laboratoires est importante : ceci s'explique par les valeurs très faibles obtenues pour les répétabilités des deux méthodes à ce niveau (< 0,1 log).

4 Praticabilité

La praticabilité est étudiée en fonction des 13 critères définis par le bureau technique en comparant la méthode de référence EN ISO 11290-2/A1/2004 à la méthode de dénombrement de *Listeria monocytogenes* utilisant le milieu RAPID'*L.Mono*.

1. Mode de conditionnement des éléments de la méthode (cf notice) 2. Volume des réactifs (cf notice et emballage des flacons)	Deux modes de conditionnement existent : - en coffret de 20 boîtes de Petri précoulées de 16-20 ml par boîte de Ø 90 mm - en coffret de 3 flacons (un flacon de milieu de base de 190 ml et deux flacons de supplément : Suppl1. de 6 mL et Suppl2. de 14mL)
3. Condition de stockage des éléments (cf notice) – Péremption des produits non ouverts (cf notice)	La température de stockage, indiquée sur le coffret, est de +2 ° 8°C. Péremption : Précisions sur les coffrets et sur chaque boîte et flacon. - boîtes précoulées : 4 mois - flacons : 1 an
4. Modalités d'utilisation après première utilisation (cf notice)	Les suppléments sont à utiliser extemporanément. Les boîtes de Petri réalisées au laboratoire sont à utiliser maximum une semaine après répartition du milieu complet. Entre répartition et utilisation, ces boîtes sont conservées à +2 ° 8°C.
5. Equipements ou locaux spécifiques nécessaires (cf notice)	Equipement nécessaire : - Etuve à 37°C Configuration normale et matériel courant d'un laboratoire de microbiologie.
6. Réactifs prêts à l'emploi ou à reconstituer (cf notice)	Précisions sur la fiche technique. Le supplément 2 est à reconstituer avec 14 mL d'eau distillée stérile.
7. Durée de formation de l'opérateur non initié à la méthode	Pour un opérateur formé aux techniques classiques de microbiologie, la formation à la technique nécessite moins de 1 jour. Néanmoins, une attention particulière est nécessaire pour la lecture des colonies typiques dont la couleur bleue est parfois atténuée en présence de flore interférente, notamment pour les produits laitiers.

8. Temps réel de manipulation et flexibilité de la technique par rapport au nombre d'échantillons à analyser :

Etapas	Temps moyen pour un échantillon (min)	
	Norme ISO 11 290-2	RAPID' <i>L.Mono</i>
Préparation, pesée, dilutions	7	7
Revivification	60	60
Transfert et étalement de la suspension mère : - 1 ml sur 6 boîtes de gélose <i>Listeria</i> selon Ottaviani et Agosti - 1 ml sur 3 boîtes de RAPID' <i>L.Mono</i>	4	3
Transfert et étalement de la suspension mère ou des dilutions : - 0.1ml sur 2 boîtes de gélose <i>Listeria</i> selon Ottaviani et Agosti - 0.1 ml sur 1 boîte de RAPID' <i>L.Mono</i>	1	0.5
Lectures, interprétation et calcul	5	5
Temps total moyen	13 à 18 minutes	12.5 à 16 minutes

Ces temps correspondent à des échantillons négatifs pour lesquels aucune confirmation n'est nécessaire. Dans le cas d'échantillons positifs, il faut rajouter le temps nécessaire aux confirmations.

9. Délai d'obtention des résultats :

échantillons négatifs :

Etapes	Délai obtenu méthode EN ISO 11290-2	Délai obtenu méthode RAPID'L.Mono
Réalisation de la suspension-mère et revivification	J0	J0
Étalement sur gélose sélective	J0	J0
Obtention des résultats négatifs - si pas de confirmations - si confirmations	J2 J4 à J7	J2

échantillons positifs :

Etapes	Délai obtenu méthode EN ISO 11 290-2	Délai obtenu méthode RAPID'L.Mono
Réalisation de la suspension-mère et revivification	J0	J0
Étalement sur gélose sélective	J0	J0
Lecture des boîtes	J1 à J2	J1 à J2
Isolement sur gélose TSAYE	J2	/ (J2)
Confirmations	J3 à J6	/ (J3 à J6)
Obtention des résultats positifs	J4 à J7	J2 (J4 à J7)

(si confirmations)

10. Type de qualification de l'opérateur	L'utilisateur doit être formé aux bonnes pratiques de laboratoire de microbiologie alimentaire.
11. Etapes communes avec la méthode de référence	réalisation de la suspension mère et des dilutions étalement sur les boîtes
12. Traçabilité des résultats d'analyse	/
13. Maintenance par le laboratoire	/

6 – Conclusion

La méthode RAPID'L.Mono a été comparée à la méthode EN ISO 11290-2/A1 :2004.

Les résultats obtenus lors de l'étude comparative des méthodes permettent de conclure que :

- la relation entre les deux méthodes est linéaire,
- l'exactitude relative de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence est satisfaisante. Les valeurs de répétabilité (en log) obtenues pour la méthode alternative et la méthode de référence sont de 0,21 log pour la méthode alternative et 0,16 log pour la méthode de référence. Le biais entre les deux méthodes (méthode alternative – méthode de référence), calculée sur les données d'exactitude est $D = -0,1 \text{ log}$.

Les résultats obtenus lors de l'étude interlaboratoire permettent de conclure que :

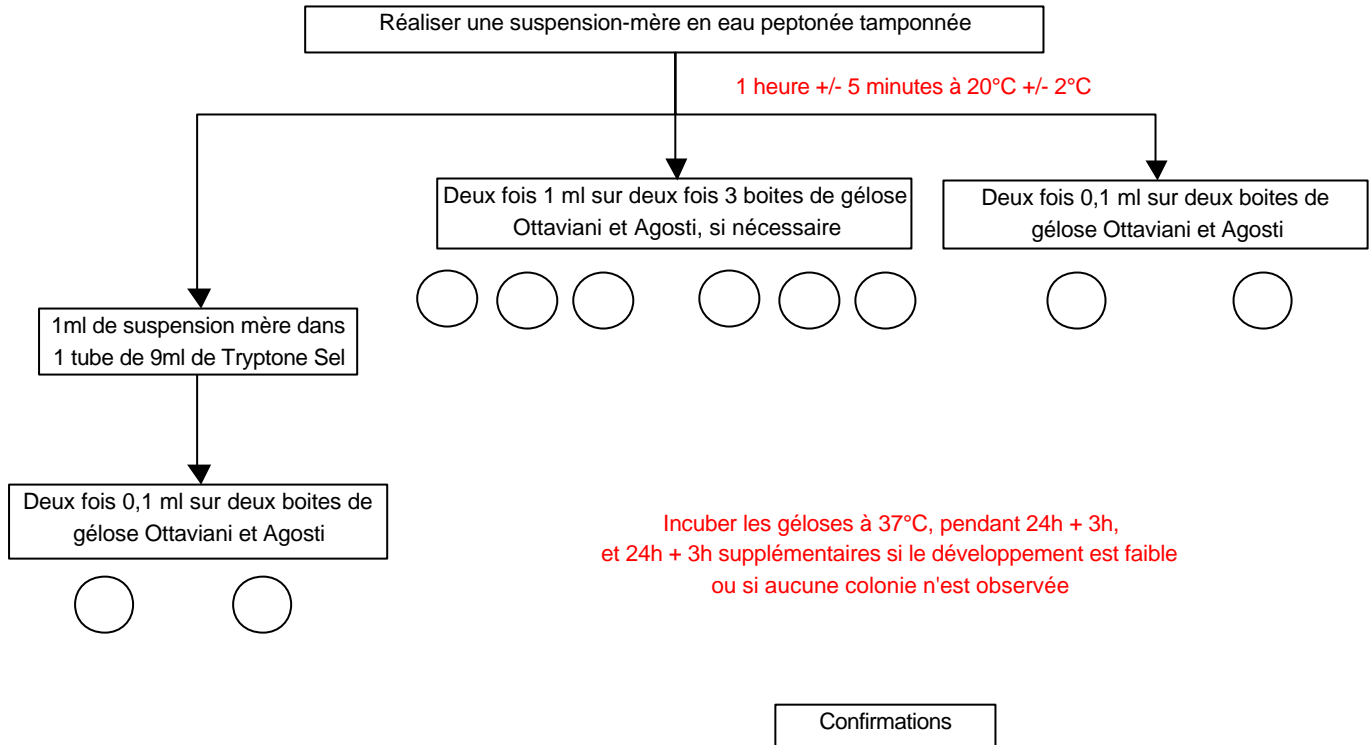
- pour tous les niveaux, l'exactitude relative de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence est satisfaisante. L'hypothèse, selon laquelle le biais entre les deux méthodes est nul, est vérifiée. Les biais obtenus entre la méthode alternative et la méthode de référence, pour chacun des niveaux, varient entre $-0,01 \text{ log}$ et $-0,06 \text{ log}$. La valeur du biais (alternative – référence) obtenue dans l'étude comparative était de l'ordre de $(-0,1 \text{ log})$.
- les valeurs de répétabilité varient de 0,37 à 0,05 log (UFC/ml) pour la méthode de référence et de 0,56 à 0,08 log (UFC/ml) pour la méthode alternative. Elles sont comparables entre les deux méthodes.
- les valeurs de reproductibilité varient de 0,37 à 0,14 log (UFC/ml) pour la méthode de référence et de 0,65 à 0,19 log (UFC/ml) pour la méthode alternative. Elles sont comparables entre les deux méthodes pour les niveaux 2 et 3. Pour le niveau 1, la valeur de reproductibilité de la méthode de référence est meilleure que celle de la méthode alternative. Il est à noter qu'elle est calculée à partir de résultats obtenus sur des petits nombres de colonies.

ANNEXES

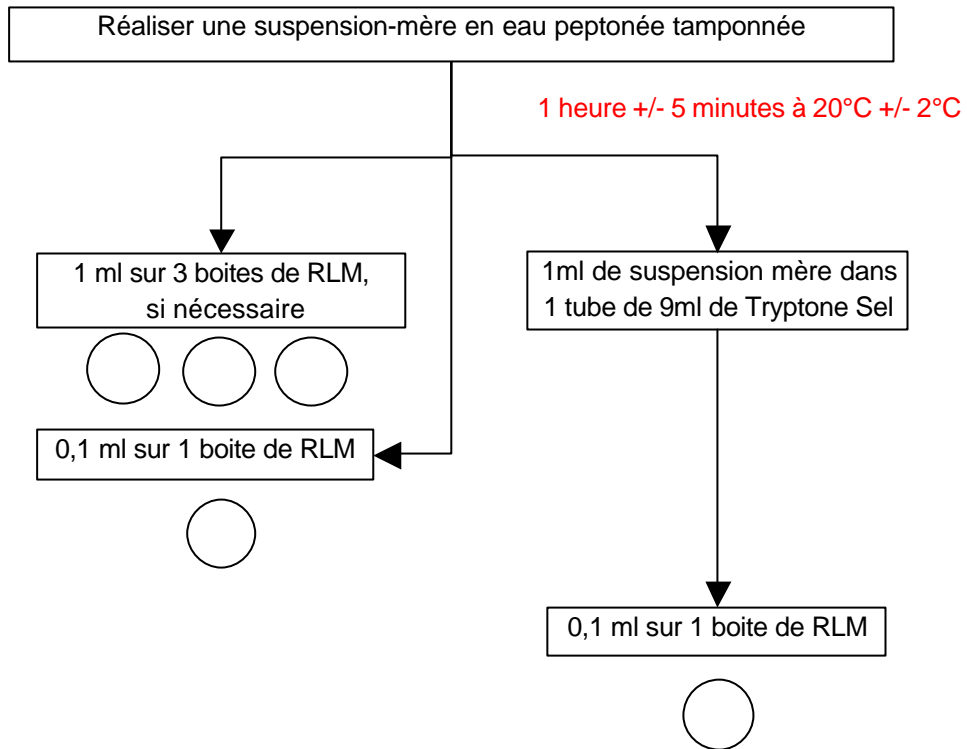
ANNEXE A :

PROTOCOLE ANALYTIQUE

METHODE DE REFERENCE EN ISO 11290-2:A1:2004



METHODE ALTERNATIVE DENOMBREMENT SUR RAPID'*L.Mono*



Incuber les géloses à 37°C, pendant 24h,
et jusque 48h (\pm 3h)

Confirmations (cf.fiche technique)

ANNEXE B :

EXACTITUDE RELATIVE
-
RESULTATS BRUTS

RESULTATS EXACTITUDE RELATIVE

ANNEXE B : page 1 sur 3

Code	Produit	Méthode de Référence (UFC/g) ou (UFC/cm ²)		Méthode Alternative (UFC/g) ou (UFC/cm ²)	
		Réplicat 1	Réplicat 2	Réplicat 1	Réplicat 2
A1	Foie gras	2000000	3250000	2300000	3000000
A2	Saucisses de Strasbourg	> 15000000	> 15000000	> 15000000	> 15000000
B1	Saucisses de Strasbourg	468182	472727	363636	400000
B2	Foie gras	80	130	30	120
B3	Knacki	> 15000000	> 15000000	> 15000000	> 15000000
C1	Saucisses de Strasbourg	<10	<10	<10	<10
C2	Saucisses de Strasbourg	1550000	1283333	1627273	1381818
C3	Knacki	500000000	422727273	345454545	463636364
C4	Foie gras	1932	2195	2282	1764
		<u>2727</u>	<u>2500</u>	<u>2455</u>	<u>2909</u>
D1	Assiette campagnarde	<10	<10	<10	<10
D2	Assiette campagnarde	<10	<10	<10	<10
D3	Saucisson	<10	<10	<10	<10
D4	Travers de porc	<10	<10	<10	<10
F1	Merguez	<10	<10	<10	<10
F2	Saucisse	218	227	320	173
F3	Chipolatas	<10	<10	<10	<10
H2	Bœuf	<10	<10	<10	<10
H3	Poitrine de porc	15	35	20	30
H4	Poitrine Fumée	<10	<10	<10	<10
H5	Tranche de porc	<10	<10	<10	<10
H6	Tranche de bœuf	65	65	90	50
G5	Viande hachée	<10	<10	<10	<10
G8	Saucisse	<10	<10	<10	<10
K3	Viande hachée	586	727	327	464
		650	1050	400	600
E9	Glace vanille (CA)	8409	9591	3773	4055
		8409	9591	<u>5000</u>	<u>4909</u>
F5	Maroilles	45	95	140	164
I3	Tomme pur brebis	<10	<10	<10	<10
K4	Munster	<10	<10	<10	<10
K5	Maroilles	30	35	10	10
L2	Chou Chantilly	1232	1141	1264	1155
		<u>1381</u>	<u>950</u>	<u>1300</u>	<u>1545</u>
L4	Fromage Lait cru	<10	<10	<10	<10
M1	Lait cru (CA)	138636	72727	120909	70909
M2	Pont l'Evêque (CA)	91818	85000	96364	73636
N4	Esquimau vanille (CA)	30	30	10	40
O1	Chocolat liégeois (CA)	1364	1364	1200	1300
O4	Lait cru	<10	<10	<10	<10
P4	Lait cru (CA)	90	90	50	30
S2	Maroilles	<10	<10	<10	<10
S3	Tomme pur brebis	<10	<10	<10	<10
T1	Camembert	9864	9773	10545	9727
T2	Epoisses	119	110	100	110
E1	Frites surgelées (CA)	5000	4500	<1000	<1000
E3	Jus d'orange frais (CA)	21364	27273	18182	20000
E4	Jus de pamplemousse (CA)	29545	34091	16364	21818
F7	Pâte brisée	<10	<10	<10	<10
I4	Poêlée campagnarde	<10	<10	<10	<10
I5	Mélange bœuf PdTerre	<10	<10	<10	<10
J3	Chou rouge émincé (CA)	209091	300000	245455	127273
J4	Mélange crudités (CA)	46364	29545	41818	36364
L1	Riz et légumes	78182	76364	58182	71818
N3	Frites surgelées	<10	<10	<10	<10
N5	Brocolis surgelés	564	618	409	655
		<u>300</u>	<u>600</u>	<u>500</u>	<u>500</u>
P1	Frites surgelées	<10	<10	<10	<10
P2	Salade	<10	<10	<10	<10
P3	Petits pois surgelés	<10	<10	<10	<10
Q1	Pommes rissolées surgelées	<10	<10	<10	<10
Q2	Salade (CA)	573	655	518	518
Q3	Frites surgelées	<10	<10	<10	<10
Q4	Petits pois surgelés (CA)	645	524	436	327
R1	Frites surgelées (CA)	214	182	127	140
R2	Petits pois surgelés (CA)	455	495	545	680
R3	Pommes rissolées surgelées (CA)	4905	5864	3818	11182
R4	Salade (CA)	37273	43182	32727	50000

gras et italique :

obtenu avec 1ml suspension mère sur 3 boîtes

souligné :

obtenu avec 0,1ml suspension mère sur 1 boîte

Code	Produit	Méthode de Référence (UFC/g) ou (UFC/cm ²)		Méthode Alternative (UFC/g) ou (UFC/cm ²)	
		Réplikat 1	Réplikat 2	Réplikat 1	Réplikat 2
E5	Filet de lieu noir (CA)	<i>1700</i>	<i>1554</i>	<i>791</i>	<i>873</i>
		<u>800</u>	<u>2136</u>	<u>500</u>	<u>500</u>
E6	Filet de sabre (CA)	3000	3500	2000	<1000
E7	Saumon fumé d'Alaska (CA)	35000	35000	40000	20000
E8	Truite fumée	12381	25000	10909	10000
F4	Truite fumée	<10	<10	<10	<10
F6	Tartare de saumon	<i>2736</i>	<i>2741</i>	<i>2282</i>	<i>2100</i>
		<u>3682</u>	<u>2773</u>	<u>2818</u>	<u>2091</u>
H1	Saumon fumé	<10	<10	<10	<10
G1	Tartare de saumon	<10	<10	<10	<10
G6	Rôti saumon Noix St Jacques	<i>4495</i>	<i>4882</i>	<i>3464</i>	<i>4336</i>
		<u>4727</u>	<u>5364</u>	<u>4545</u>	<u>5636</u>
G7	Poisson basquaise	> 150000	> 150000	> 150000	> 150000
G9	Poisson basquaise	3590909	3409091	2818182	3727273
I1	Rillettes de saumon (CA)	745455	672727	490909	572727
I2	Surimi (CA)	<i>1550</i>	<i>1568</i>	<i>1209</i>	<i>1191</i>
		<u>2545</u>	<u>1524</u>	<u>1636</u>	<u>1273</u>
I6	Moules	69091	65000	39091	51000
I7	Coquillages	38636	47727	32727	34545
J1	Filets de harengs	<10	<10	<10	<10
J2	Filets de harengs	<10	<10	<10	<10
N2	Filet d'églefin (CA)	<i>2350</i>	<i>2073</i>	<i>2064</i>	<i>2273</i>
		<u>3000</u>	<u>2500</u>	<u>2000</u>	<u>2100</u>
O2	Pavé de saumon	<10	<10	<10	<10
G2	Eau évacuation local épices	5000	<10000	<10000	<10000
G3	Eau résiduelle Steriflow	<1000	<1000	<1000	<1000
G4	Eau résiduelle cuve intérieure Stériflon	25	15	<10	<10
K1	Eau stagnante bacs sales (CA)	7955	9273	4091	5364
K2	Eau stagnante bacs poissons (CA)	10000	22273	9000	12000
M3	Eponge de surface atelier découpe	58000	64500	51000	49000
M4	Eponge de surface stand fromage	21500	16045	13000	13000
M5	Eponge de surface fabrication fromages	39500	38500	19000	22000
N1	Eponge de surface fromagerie	<i>1577</i>	<i>1805</i>	<i>1391</i>	<i>1445</i>
		<u>1636</u>	<u>1864</u>	<u>1000</u>	<u>1909</u>
O3	Farce au sol (CA)	323	332	110	100
R5	Sciure d'os de porc	1064	1105	955	1064
S1	Ecouvillon	218182	195455	163636	162727
S4	Résidus fromage	<10	<10	<10	<10
T3	Résidus fromage	227	205	191	164

gras et italique :

obtenu avec 1ml suspension mère sur 3 boîtes

souligné :

obtenu avec 0,1ml suspension mère sur 1 boîte

RESULTATS EXACTITUDE RELATIVE

ANNEXE B : page 3 sur 3

Code	Produit	Méthode de Référence log(UFC/g) ou log(UFC/cm ²)		Méthode Alternative log(UFC/g) ou log(UFC/cm ²)	
		Réplicat 1	Réplicat 2	Réplicat 1	Réplicat 2
A1	Foie gras	6,30	6,51	6,36	6,48
B1	Saucisses de Strasbourg	5,67	5,67	5,56	5,60
B2	Foie gras	1,90	2,11	1,48	2,08
C2	Saucisses de Strasbourg	6,19	6,11	6,21	6,14
C3	Knacki	8,70	8,63	8,54	8,67
C4	Foie gras	3,29	3,34	3,36	3,25
		<u>3,44</u>	<u>3,40</u>	<u>3,39</u>	<u>3,46</u>
F2	Saucisse	2,34	2,36	2,51	2,24
H3	Poitrine de porc	1,18	1,54	1,30	1,48
H6	Tranche de bœuf	1,81	1,81	1,95	1,70
K3	Viande hachée	2,77	2,86	2,51	2,67
		<u>2,81</u>	<u>3,02</u>	<u>2,60</u>	<u>2,78</u>
E9	Glace vanille (CA)	3,92	3,98	3,58	3,61
		<u>3,92</u>	<u>3,98</u>	<u>3,70</u>	<u>3,69</u>
F5	Maroilles	1,65	1,98	2,15	2,21
K5	Maroilles	1,48	1,54	1,00	1,00
L2	Chou Chantilly	3,09	3,06	3,10	3,06
		<u>3,14</u>	<u>2,98</u>	<u>3,11</u>	<u>3,19</u>
M1	Lait cru (CA)	5,14	4,86	5,08	4,85
M2	Pont l'Evêque (CA)	4,96	4,93	4,98	4,87
N4	Esquimau vanille (CA)	1,48	1,48	1,00	1,60
O1	Chocolat liégeois (CA)	3,13	3,13	3,08	3,11
P4	Lait cru (CA)	1,96	1,95	1,70	1,48
T1	Camembert	3,99	3,99	4,02	3,99
T2	Epoisses	2,08	2,04	2,00	2,04
E3	Jus d'orange frais (CA)	4,33	4,44	4,26	4,30
E4	Jus de pamplemousse (CA)	4,47	4,53	4,21	4,34
J3	Chou rouge émincé (CA)	5,32	5,48	5,39	5,10
J4	Mélange crudités (CA)	4,67	4,47	4,62	4,56
L1	Riz et légumes	4,89	4,88	4,76	4,86
N5	Brocolis surgelés	2,75	2,79	2,61	2,82
		<u>2,48</u>	<u>2,78</u>	<u>2,70</u>	<u>2,70</u>
Q2	Salade (CA)	2,76	2,82	2,71	2,71
Q4	Petits pois surgelés (CA)	2,81	2,72	2,64	2,51
R1	Frites surgelées (CA)	2,33	2,26	2,10	2,15
R2	Petits pois surgelés (CA)	2,66	2,70	2,74	2,83
R3	Pommes rissolées surgelées (CA)	3,69	3,77	3,58	4,05
R4	Salade (CA)	4,57	4,64	4,51	4,70
E5	Filet de lieu noir (CA)	3,23	3,19	2,90	2,94
		<u>2,90</u>	<u>3,33</u>	<u>2,70</u>	<u>2,70</u>
E7	Saumon fumé d'Alaska (CA)	4,54	4,54	4,60	4,30
E8	Truite fumée	4,09	4,40	4,04	4,00
F6	Tartare de saumon	3,44	3,44	3,36	3,32
		<u>3,57</u>	<u>3,44</u>	<u>3,45</u>	<u>3,32</u>
G6	Rôti saumon Noix St Jacques	3,65	3,69	3,54	3,64
		<u>3,67</u>	<u>3,73</u>	<u>3,66</u>	<u>3,75</u>
G9	Poisson basquaise	6,56	6,53	6,45	6,57
I1	Rillettes de saumon (CA)	5,87	5,83	5,69	5,76
I2	Surimi (CA)	3,19	3,20	3,08	3,08
		<u>3,41</u>	<u>3,18</u>	<u>3,21</u>	<u>3,10</u>
I6	Moules	4,84	4,81	4,59	4,71
I7	Coquillages	4,59	4,68	4,51	4,54
N2	Filet d'églefin (CA)	3,37	3,32	3,31	3,36
		<u>3,48</u>	<u>3,40</u>	<u>3,30</u>	<u>3,32</u>
K1	Eau stagnante bacs sales (CA)	3,90	3,97	3,61	3,73
K2	Eau stagnante bacs poissons (CA)	4,00	4,35	3,95	4,08
M3	Eponge de surface	4,76	4,81	4,71	4,69
M4	Eponge de surface	4,33	4,21	4,11	4,11
M5	Eponge de surface	4,60	4,59	4,28	4,34
N1	Eponge de surface	3,20	3,26	3,14	3,16
		<u>3,21</u>	<u>3,27</u>	<u>3,00</u>	<u>3,28</u>
O3	Farce au sol (CA)	2,51	2,52	2,04	2,00
R5	Sciure d'os de porc	3,03	3,04	2,98	3,03
S1	Ecouvillon	5,34	5,29	5,21	5,21
T3	Résidus fromage	2,36	2,31	2,28	2,21

gras et italique :

obtenu avec 1ml suspension mère sur 3 boîtes

souligné :

obtenu avec 0,1ml suspension mère sur 1 boîte

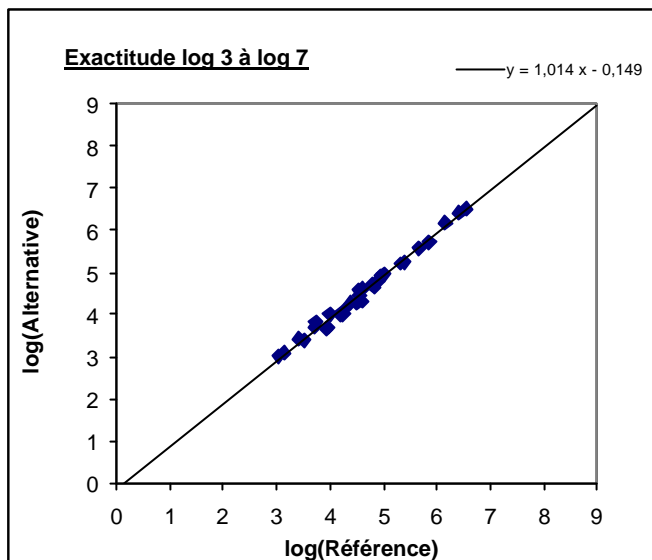
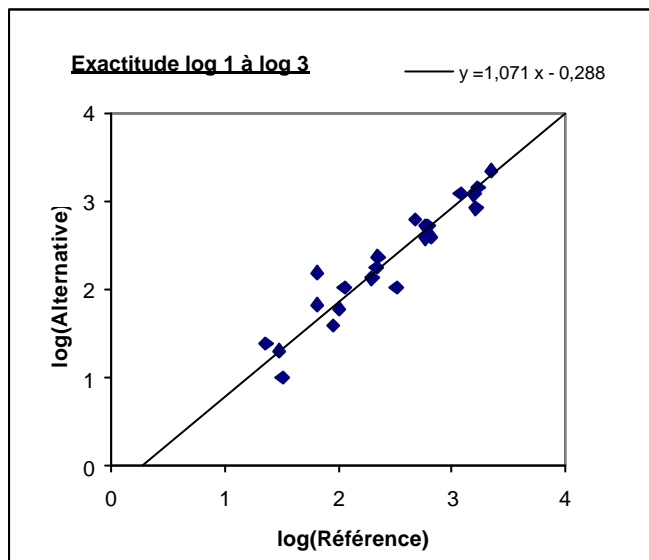
ANNEXE C :

EXACTITUDE RELATIVE

-

INTERPRETATION DES DONNEES EN DEUX GROUPES

DONNEES SEPARÉES EN DEUX GROUPES TOUTES CATEGORIES CONFONDUES



Domaine (en log)	Rob.R	Régression utilisée	Tcritique	a	t(a)	p(t ;a=0)	b	t(b)	p(t ;b=1)	Conclusion
1 - 3	1,57	GMFR	2,086	-0,288	1,573	0,131	1,007	0,966	0,345	{a=0} acceptée {b=1} acceptée
3 - 7	1,29	GMFR	2,045	-0,149	1,536	0,135	1,014	0,681	0,501	{a=0} acceptée {b=1} acceptée

Domaine (en log)	Répétabilité (en log)		Biais (D) en log (alternative – référence)
	Réf.	Alt.	
1 - 3	0,13	0,20	- 0,08
3 - 7	0,17	0,22	- 0,09

ANNEXE D :

LINEARITE
-
RESULTATS BRUTS

LINEARITE

Matrice	Souche	Taux introduit	Méthode de Référence (UFC/g)		Méthode Alternative (UFC/g)	
			Réplicat 1	Réplicat 2	Réplicat 1	Réplicat 2
Eau de process	L28	52	55	40	30	30
		115	160	250	160	180
		520	577	691	491	600
		1150	1168	1155	973	991
		7475	11364	12909	7636	10000
Rillettes	L49	110	140	115	100	150
		430	1027	914	855	700
		1100	1373	1950	936	873
		7150	5455	5227	3882	3200
		8000	9091	12273	10636	6909
Lait cru	L37	21	30	60	40	50
		60	90	175	80	160
		210	191	195	145	191
		600	741	805	645	518
		3750	3000	3500	3545	3455
Saumon fumé	L12	29	35	40	50	20
		87	50	40	70	30
		400	495	327	327	300
		870	868	877	827	791
		5437	3955	3591	4273	3000
Chou	L58	25	15	65	20	60
		78	230	195	210	200
		352	750	655	636	782
		940	1091	955	1064	627
		8600	9455	11136	10636	8727

Méthode de Référence log(UFC/g)		Méthode Alternative log(UFC/g)	
Réplicat 1	Réplicat 2	Réplicat 1	Réplicat 2
1,74	1,60	1,48	1,48
2,20	2,40	2,20	2,26
2,76	2,84	2,69	2,78
3,07	3,06	2,99	3,00
4,06	4,11	3,88	4,00
2,15	2,06	2,00	2,18
3,01	2,96	2,93	2,85
3,14	3,29	2,97	2,94
3,74	3,72	3,59	3,51
3,96	4,09	4,03	3,84
1,48	1,78	1,60	1,70
1,95	2,24	1,90	2,20
2,28	2,29	2,16	2,28
2,87	2,91	2,81	2,71
3,48	3,54	3,55	3,54
1,54	1,60	1,70	1,30
1,70	1,60	1,85	1,48
2,70	2,51	2,51	2,48
2,94	2,94	2,92	2,90
3,60	3,56	3,63	3,48
1,18	1,81	1,30	1,78
2,36	2,29	2,32	2,30
2,88	2,82	2,80	2,89
3,04	2,98	3,03	2,80
3,98	4,05	4,03	3,94

ANNEXE E :

SPECIFICITE

Inclusivité

Etude	Souche	Origine	Colonies sur RAPID'L.Mono		Résultat (L.monocytogenes)
			Couleur	Aspect	
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a (85 souches)		Bleue	Typique	+
IPL 1999	<i>L.monocytogenes</i> 1/2a		Bleue	Typique	+
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2b (26 souches)		Bleue	Typique	+
IPL 1999	<i>L.monocytogenes</i> 1/2b		Bleue	Typique	+
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2c (11 souches)		Bleue	Typique	+
IPL 1999	<i>L.monocytogenes</i> 1/2		Bleue	Typique	+
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 3a		Blanche	/	-
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 3a		Bleue	Typique	+
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 3b		Bleue	Typique	+
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 3c		Bleue	Typique	+
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 4a		Bleue	Typique	+
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 4b (41 souches)		Bleue	Typique	+
IPL 1998	<i>L.monocytogenes</i> 4b	Salade	Bleue	Typique	+
IPL 1999	<i>L.monocytogenes</i> 4b		Bleue	Typique	+
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 4c		Bleue	Typique	+
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 4d		Bleue	Typique	+
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 4e		Bleue	Typique	+
IPP 1997	<i>Listeria monocytogenes</i> 7		Bleue	Typique	+
IPL 1998	<i>L.monocytogenes</i>	Viande hachée	Bleue	Typique	+
IPL 1998	<i>L.monocytogenes</i>	ATCC 19115	Bleue	Typique	+
IPL 1998	<i>L.monocytogenes</i>	Brie de Meaux	Bleue	Typique	+
IPL 1998	<i>L.monocytogenes</i>	Scott A	Bleue	Typique	+
IPL 1998	<i>L.monocytogenes</i>	Viande crue	Bleue	Typique	+
IPL 1998	<i>L.monocytogenes</i>	Viande hachée	Bleue	Typique	+
IPL 1998	<i>L.monocytogenes</i>	Saumon fumé	Bleue	Typique	+

Exclusivité

Etude	Souche	Origine	Colonies sur RAPID ^L .Mono		Résultat (<i>L.monocytogenes</i>)
			Couleur	Aspect	
IPP 1997	<i>Listeria innocua</i> 6a (8 souches)		Blanche	/	-
IPP 1997	<i>Listeria innocua</i> 6b (3 souches)		Blanche	/	-
IPP 1997	<i>Listeria innocua</i> 4ab		Blanche	/	-
IPL 1998	<i>Listeria innocua</i>	Cuisse de poulet	Blanche	Petites colonies	-
IPL 1998	<i>Listeria innocua</i>	Viande hachée	Blanche	Petites colonies	-
IPL 1998	<i>Listeria innocua</i>	Fromage	Blanche	Petites colonies	-
IPL 1998	<i>Listeria innocua</i>	Viande crue	Blanche	Petites colonies	-
IPL 1999	<i>Listeria innocua</i>		Blanche	Petites colonies	-
IPL 1999	<i>Listeria innocua</i>		Blanche	Petites colonies	-
IPP 1997	<i>Listeria ivanovii</i> subsp <i>ivanovii</i> 5 (5 souches)		Bleue entourée de jaune	/	-
IPP 1997	<i>Listeria ivanovii</i> subsp <i>londoniensis</i> 5 (5 souches)		Bleue entourée de jaune	/	-
IPL 1998	<i>L.ivanovii</i>	Collection	Bleue entourée de jaune	Petites colonies	-
IPP 1997	<i>Listeria seeligeri</i> 1/2b (4 souches)		Jaune	/	-
IPP 1997	<i>Listeria seeligeri</i> 6b (3 souches)		Jaune	/	-
IPP 1997	<i>Listeria seeligeri</i> 4c (2 souches)		Jaune	/	-
IPP 1997	<i>Listeria seeligeri</i>		Jaune	/	-
IPP 1997	<i>Listeria welshimeri</i> 4c (2 souches)		Jaune pâle	/	-
IPP 1997	<i>Listeria welshimeri</i> 6a (3 souches)		Jaune pâle	/	-
IPP 1997	<i>Listeria welshimeri</i> 6b (2 souches)		Jaune pâle	/	-
IPP 1997	<i>Listeria welshimeri</i> (3 souches)		Jaune pâle	/	-
IPL 1998	<i>Listeria welshimeri</i>	Viande crue	Jaune pâle	Petites colonies	-
IPP 1997	<i>Listeria grayi</i>		Blanche	/	-
IPL 1998	<i>Bacillus cereus</i>	Viande crue	Rose à centre violet	Non typique	-
IPL 1998	<i>Bacillus cereus</i>	Produit laitier	Rose pâle	Non typique	-
IPL 1998	<i>Bacillus cereus</i>	Légumes surgelés	Rose	Non typique	-
IPL 1998	<i>Bacillus cereus</i>	Produit laitier	Rose à centre violet	Non typique	-
IPL 1998	<i>Bacillus cereus</i>	Farine	Rose	Non typique	-
IPL 1998	<i>Bacillus cereus</i>	Légumes surgelés	Rose à centre violet	Non typique	-
IPL 1999	<i>Bacillus cereus</i>		Rose à centre violet	Non typique	-
IPL 1999	<i>Bacillus cereus</i>		Rose	Non typique	-
IPL 1998	<i>Bacillus subtilis</i>	Pâte à pain crue	Blanche	Non typique	-
IPL 1998	<i>Bacillus megaterium</i>	Viande crue	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Bacillus megaterium</i>	Produit laitier	Ø	/	-
IPL 1999	<i>Bacillus pumilus</i>		Rose-orangé	Non typique	-
IPL 1998	<i>Staphylococcus aureus</i>	Produit laitier	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Staphylococcus aureus</i>	Produit laitier	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Staphylococcus aureus</i>	Produit laitier	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Staphylococcus aureus</i>	Produit laitier	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Staphylococcus aureus</i>	Viande crue	Ø	/	-
IPL 1999	<i>Staphylococcus aureus</i>		Rose	/	-
IPL 1998	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Viande crue	Blanche	/	-
IPL 1998	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Viande crue	Ø	/	-
IPL 1999	<i>Staphylococcus cohnii</i>		Blanche	Non typique (colonies très petites)	-
IPL 1998	<i>Enterococcus faecalis</i>	Viande crue	Blanche translucide	/	-
IPL 1999	<i>Enterococcus faecalis</i>		Ø	/	-
IPL 1999	<i>Enterococcus faecalis</i>		Ø	/	-
IPL 1999	<i>Enterococcus faecalis</i>		Blanche	Non typique (colonies très petites)	-
IPL 1999	<i>Enterococcus faecalis</i>		Blanche	Non typique (colonies très petites)	-
IPL 1998	<i>Enterococcus durans</i>	Viande crue	Ø	/	-
IPL 1999	<i>Enterococcus sp.</i>		Ø	/	-
IPL 1998	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Produit laitier	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Lactobacillus lactis lactis</i>	Produit laitier	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Lactobacillus casei</i>	Produit laitier	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Lactobacillus fermentum</i>	Viande crue	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Pain cru	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Rhodococcus</i>		Ø	/	-
IPL 1998	<i>Brochotrix</i>		Ø	/	-
IPL 1998	<i>Clostridium perfringens</i>	Collection	Ø	/	-
IPL 1998	<i>E.coli</i> O157	CIS 4288	Orange	/	-
IPL 1998	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Viande crue	Orange	/	-
IPL 1998	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Produit laitier	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Rhodotorula rubra</i>	Fromage	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Biscuit	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Candida parapsilosis</i>	Jus de fruits	Ø	/	-
IPL 1998	<i>Candida parapsilosis</i>	Produit laitier	Blanche	/	-

ANNEXE F :

ETUDE COLLABORATIVE
RESULTATS DETAILLES
DU LABORATOIRE EXPERT
ET
DES LABORATOIRES PARTICIPANTS

RESULTATS BRUTS

Niveau 0

NOMBRE DE COLONIES CARACTERISTIQUES COMPTEES

Laboratoires (i)	Méthode de référence (Agar Listeria selon Ottaviani and Agosti à 24 heures)																													
	Echantillon 2										Echantillon 6																			
	-1			-1			-1		-2		-3		Résultat (UFC/ml)	-1			-1			-1		-2		-3		Résultat (UFC/ml)				
	1 ml sur 3 boîtes			oui			0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte			1 ml sur 3 boîtes			1 ml sur 3 boîtes			0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte						
boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	
A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
J	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
O	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
Laboratoire expert	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10

Laboratoires (i)	Méthode alternative (RAPID'L.Mono à 48 heures)														
	Echantillon 2							Echantillon 6							
	-1			-1	-2	-3	Résultat (UFC/ml)	-1			-1	-2	-3	Résultat (UFC/ml)	
	1 ml sur 3 boîtes			0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte		1 ml sur 3 boîtes			0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte		
boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 1	boîte 1	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2
A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
J	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
O	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10
Laboratoire expert	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<10

RESULTATS BRUTS

Niveau 1

NOMBRE DE COLONIES CARACTERISTIQUES COMPTEES
Contamination initiale : 86 *Listeria monocytogenes* par ml

Laboratoires (i)	Méthode de référence (Agar Listeria selon Ottaviani and Agosti à 24 heures)																															
	Echantillon 4										Echantillon 8																					
	-1				-1				-1		-2		-3		Résultat (UFC/ml)	-1				-1				-1		-2		-3		Résultat (UFC/ml)		
	1 ml sur 3 boîtes				oui				0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte			1 ml sur 3 boîtes				1 ml sur 3 boîtes				0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte				
boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	
A	2	1	3	6	10	3	5	18	1	0	0	0	0	0	120	5	3	3	11	2	1	1	4	2	0	0	0	0	0	0	75	
B	2	3	6	11	4	0	4	8	0	1	1	1	0	0	95	2	4	4	10	4	3	0	7	1	1	0	0	0	0	0	85	
C	5	2	5	12	4	0	2	6	0	0	0	0	0	0	90	3	3	2	8	1	2	5	8	0	1	0	0	0	0	0	80	
D	4	3	4	11	1	2	4	7	1	1	0	0	0	0	90	6	2	2	10	4	3	7	14	0	1	0	0	0	0	0	120	
E	3	3	3	9	4	1	4	9	3	2	0	0	0	0	90	3	8	2	13	3	5	4	12	2	0	0	0	0	0	0	125	
F	1	8	2	11	7	6	2	15	0	0	0	0	0	0	130	2	3	2	7	2	0	4	6	0	1	0	0	0	0	0	65	
G	4	1	5	10	1	3	5	9	0	0	0	0	0	0	95	2	3	4	9	4	3	5	12	1	0	0	0	0	0	0	105	
H	3	4	5	12	5	1	2	8	0	0	0	0	0	0	100	3	6	6	15	3	6	1	10	0	2	0	0	0	0	0	125	
I	4	2	3	9	3	3	4	10	2	0	0	0	0	0	95	3	4	3	10	1	2	3	6	1	2	0	0	0	0	0	80	
J	3	3	4	10	1	6	7	14	4	1	0	0	0	0	120	4	2	4	10	6	3	3	12	0	0	0	0	0	0	0	0	110
L	5	7	3	15	3	3	9	15	1	0	0	0	0	0	150	4	3	1	8	5	2	6	13	0	1	0	0	0	0	0	0	105
M	6	5	3	14	2	2	1	5	1	1	0	0	0	0	95	9	3	3	15	5	3	3	11	0	2	0	0	0	0	0	0	130
N	2	6	2	10	3	2	4	9	0	2	0	0	0	0	95	6	2	2	10	0	3	3	6	3	0	0	0	0	0	0	0	80
O	2	2	3	7	1	3	2	6	0	0	0	0	0	0	65	5	3	5	13	2	1	3	6	0	0	0	0	0	0	0	0	95
Laboratoire expert	4	3	5	12	5	2	2	9	0	1	0	0	0	0	105	3	3	0	6	2	1	2	5	0	1	0	0	0	0	0	55	

Laboratoires (i)	Méthode alternative (RAPID'L.Mono à 48 heures)																
	Echantillon 4						Echantillon 8										
	-1				-1	-2	-3	Résultat (UFC/ml)	-1				-1	-2	-3	Résultat (UFC/ml)	
	1 ml sur 3 boîtes				0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte		1 ml sur 3 boîtes				0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte		
boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total
A	2	2	2	6	1	0	0	60	2	1	1	4	0	0	0	0	40
B	1	4	2	7	2	0	0	70	2	2	6	10	2	0	0	0	100
C	1	1	6	8	0	1	0	80	2	2	1	5	1	0	0	0	50
D	3	4	2	9	2	0	0	90	4	4	9	17	0	0	0	0	170
E	3	0	1	4	0	0	0	40	3	2	2	7	1	0	0	0	70
F	1	2	2	5	0	0	0	50	3	2	7	12	2	0	0	0	120
G	3	4	2	9	0	0	0	90	3	4	6	13	1	0	0	0	130
H	2	3	4	9	0	0	0	90	3	4	4	11	1	0	0	0	110
I	6	5	3	14	1	0	0	140	5	2	2	9	0	0	0	0	90
J	5	3	1	9	1	2	0	90	5	3	3	11	2	0	0	0	110
L	5	3	1	9	0	0	0	90	5	4	3	12	1	0	0	0	120
M	3	6	2	11	1	0	0	110	2	5	6	13	1	0	0	0	130
N	4	3	2	9	0	0	0	90	6	4	5	15	1	0	0	0	150
O	6	0	5	11	2	0	0	110	1	2	2	5	2	0	0	0	50
Laboratoire expert	2	2	2	6	3	0	0	60	5	7	3	15	2	0	0	0	150

RESULTATS BRUTS

Niveau 2

NOMBRE DE COLONIES CARACTERISTIQUES COMPTEES
Contamination initiale : 780 *Listeria monocytogenes* par ml

Laboratoires (i)	Méthode de référence (Agar Listeria selon Ottaviani and Agosti à 24 heures)																													
	Echantillon 1										Résultat (UFC/ml)	Echantillon 5																		
	-1			-1			-1		-2			-3		-1			-1			-1		-2		-3		Résultat (UFC/ml)				
	1 ml sur 3 boîtes			oui			0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte			0,1 ml par boîte		1 ml sur 3 boîtes			1 ml sur 3 boîtes			0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte						
boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2		boîte 1	boîte 2	boîte 1	boîte 2
A	40	33	49	122	60	50	33	143	10	11	0	1	0	0	1300	48	27	40	115	81	27	30	138	9	12	1	1	0	0	1245
B	37	34	37	108	28	29	30	87	11	11	1	0	0	0	986	44	28	30	102	16	60	46	122	16	7	3	0	0	0	1123
C	26	42	36	104	35	30	34	99	9	10	2	2	0	0	1009	43	23	26	92	37	36	37	110	9	11	0	3	0	0	1009
D	37	29	28	94	24	31	47	102	12	15	2	1	0	0	1014	31	26	34	91	45	32	22	99	11	5	2	0	0	0	936
E	28	41	29	5,8	13	36	46	95	3	9	0	0	0	0	513	33	36	28	97	41	28	36	105	21	10	2	1	0	0	1059
F	25	31	40	12,8	31	35	45	111	7	8	0	3	0	0	631	41	29	31	101	37	30	45	112	12	11	1	1	0	0	1073
G	33	29	27	89	34	31	26	91	9	12	2	0	0	0	914	27	28	35	90	29	33	34	96	12	8	2	0	0	0	936
H	33	36	40	109	41	32	33	106	12	16	0	1	0	0	1105	47	28	40	115	25	20	34	79	11	15	1	2	0	0	1000
I	26	24	40	90	31	35	41	107	15	11	2	1	0	0	1014	47	41	35	123	29	26	40	95	16	16	1	1	0	0	1136
J	36	35	40	111	37	21	29	87	5	5	0	0	0	0	945	41	27	33	101	32	39	51	122	17	11	0	0	0	0	1141
L	26	28	42	96	27	35	34	96	18	11	1	0	0	0	1005	23	32	31	86	40	41	30	111	16	13	3	2	0	0	1027
M	37	47	36	120	28	23	27	78	23	7	0	1	0	0	1036	61	38	17	116	41	42	35	118	15	10	2	1	0	0	1177
N	31	40	21	92	29	24	40	93	3	19	1	0	0	0	941	24	26	34	84	39	32	33	104	6	22	4	0	0	0	982
O	29	26	30	85	32	25	26	83	6	6	2	1	0	0	818	61	37	29	127	49	30	31	110	8	12	0	7	0	0	1168
Laboratoire expert	23	20	19	62	21	22	21	64	12	23	2	0	0	0	732	18	9	37	64	22	26	25	73	7	7	0	0	0	0	686

Laboratoires (i)	Méthode alternative (RAPID'L.Mono à 48 heures)															
	Echantillon 1						Résultat (UFC/ml)	Echantillon 5								
	-1			-1		-3		-1			-2		-3	Résultat (UFC/ml)		
	1 ml sur 3 boîtes			0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte		1 ml sur 3 boîtes			0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte			
boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	boîte 1	boîte 2	boîte 3	Total	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte			
A	31	29	25	85	4	0	0	809	21	7	21	49	8	0	0	518
B	24	33	32	89	16	0	0	955	24	41	27	92	12	1	0	945
C	29	38	36	103	10	0	0	1027	41	31	40	112	10	1	0	1109
D	35	23	44	102	9	1	0	1009	26	36	33	95	4	2	0	900
E	33	24	34	91	11	3	0	927	27	35	29	91	10	0	0	918
F	37	28	15	80	9	0	0	809	29	30	42	101	11	0	0	1018
G	31	39	38	108	8	1	0	1055	37	29	36	102	10	2	0	1018
H	33	33	51	117	13	2	0	1182	31	40	45	116	6	4	0	1109
I	31	35	41	107	9	1	0	1055	32	28	39	99	9	1	0	982
J	30	41	45	116	15	0	0	1191	35	30	40	105	11	2	0	1055
L	33	20	26	79	12	1	0	827	38	43	46	127	11	1	0	1255
M	38	42	28	108	8	0	0	1055	27	33	18	78	13	0	0	827
N	26	14	23	63	9	0	0	655	23	33	24	80	9	1	0	809
O	25	22	21	68	2	0	0	636	28	36	32	96	7	2	0	936
Laboratoire expert	25	21	25	71	9	1	0	727	36	27	28	91	10	0	0	918

RESULTATS BRUTS

Niveau 3

NOMBRE DE COLONIES CARACTERISTIQUES COMPTEES
Contamination initiale : 7900 *Listeria monocytogenes* par ml

Laboratoires (i)	Méthode de référence (Agar Listeria selon Ottaviani and Agosti à 24 heures)																													
	Echantillon 3										Résultat (UFC/ml)	Echantillon 7																		
	-1				-1				-2			-3		-1				-1				-2		-3						
	1 ml sur 3 boîtes				oui				0,1 ml par boîte			0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte		1 ml sur 3 boîtes				1 ml sur 3 boîtes				0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte		0,1 ml par boîte		
			Total				Total										Total				Total				Total				Total	
A	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	100	96	7	11	2	0	9727	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	105	85	10	14	2	1	9727
B	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	99	88	5	15	1	2	9409	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	96	87	7	9	0	1	9045
C	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	107	95	10	9	0	0	10045	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	123	100	11	19	0	0	11500
D	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	101	115	14	13	1	0	11045	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	108	114	11	10	1	3	11045
E	>150	>150	>150	>450	>151	>150	>150	>450	91	94	13	13	1	2	9591	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	85	120	15	3	2	1	10136
F	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	115	100	13	8	0	1	10727	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	99	102	16	12	0	0	10409
G	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	136	127	14	16	0	1	13318	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	124	116	12	14	1	1	12091
H	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	125	102	17	18	3	0	11909	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	82	100	11	13	2	0	9364
I	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	103	122	13	17	1	2	11591	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	115	123	14	13	3	0	12045
J	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	119	129	6	13	2	1	12136	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	99	91	11	9	1	1	9545
L	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	149	160	13	10	5	1	15091	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	212	333	28	46	1	1	34545
M	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	104	118	8	6	0	9	10727	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	90	123	11	18	2	0	11000
N	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	137	115	9	5	4	2	12091	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	124	118	19	15	1	0	12545
O	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	71	78	13	5	0	0	7591	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	85	82	7	12	1	0	8455
Laboratoire expert	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	105	90	9	11	1	2	9773	>150	>150	>150	>450	>150	>150	>150	>450	112	87	10	9	3	1	9909

Laboratoires (i)	Méthode alternative (RAPID'L.Mono à 48 heures)															
	Echantillon 3							Résultat (UFC/ml)	Echantillon 7							
	-1				0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte		-1				0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	0,1 ml par boîte	
	1 ml sur 3 boîtes			Total					1 ml sur 3 boîtes			Total				
A	>150	>150	>150	>450	89	13	1	7818	>150	>150	>150	>450	105	4	2	9727
B	>150	>150	>150	>450	74	12	2	7818	>150	>150	>150	>450	96	11	0	9727
C	>150	>150	>150	>450	108	12	1	10909	>150	>150	>150	>450	113	5	0	10727
D	>150	>150	>150	>450	104	8	1	10182	>150	>150	>150	>450	92	13	2	9545
E	>150	>150	>150	>450	115	6	0	11000	>150	>150	>150	>450	91	12	2	9364
F	>150	>150	>150	>450	90	8	1	8909	>150	>150	>150	>450	97	8	0	9545
G	>150	>150	>150	>450	123	9	0	12000	>150	>150	>150	>450	126	13	0	12636
H	>150	>150	>150	>450	98	5	2	9364	>150	>150	>150	>450	94	10	2	9455
I	>150	>150	>150	>450	110	15	1	11364	>150	>150	>150	>450	119	13	1	12000
J	>150	>150	>150	>450	117	14	2	11909	>150	>150	>150	>450	111	13	0	11273
L	>150	>150	>150	>450	168	27	2	26364	>150	>150	>150	>450	251	42	2	40000
M	>150	>150	>150	>450	107	14	0	11000	>150	>150	>150	>450	101	9	0	10000
N	>150	>150	>150	>450	96	8	0	9455	>150	>150	>150	>450	108	5	1	10273
O	>150	>150	>150	>450	88	11	0	9000	>150	>150	>150	>450	102	3	0	9545
Laboratoire expert	>150	>150	>150	>450	112	10	1	11091	>150	>150	>150	>450	90	8	0	8909